

Title	Recombinant soluble Fc $\epsilon$ receptor II (Fc $\epsilon$ RII/CD23) has IgE binding activity but no B Cell growth promoting activity
Author(s)	内林, 直人
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37107">https://hdl.handle.net/11094/37107</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名・(本籍)	うち 内	ばやし 林	な 直	おと 人
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 1 0 0	号	
学位授与の日付	平 成	2 年	3 月	24 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学 位 論 文 題 目	Recombinant soluble Fcε receptor II (FcεRII/CD23) has IgE binding activity but no B Cell growth promoting activity (可溶性 IgE 受容体 (Fcε RII/CD23) の IgE 結合活性と B 細胞増殖活性)			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 (副査) 教 授	荻原 俊男 岸本 忠三	教 授	谷口 維紹

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

リンパ球の低親和性 IgE 受容体 (FcεRII/CD23) は B 細胞特有の分化抗原であり、肥満細胞、好塩基球上の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) とは異なり、その一部の分解産物が可溶性 FcεRII として細胞外へ遊離する。アトピー疾患や高 IgE 症候群患者では B 細胞の FcεRII 発現が増強されていることが報告されているが、アトピー患者の血清中では可溶性 FcεRII が IgE と複合体を形成して存在しており血中 IgE の中和やアレルギーにおけるエフェクター細胞の機能抑制に関与している可能性が示唆されている。一方、FcεRII/CD23 は EB ウイルスや IL4 刺激により B 細胞に発現が誘導される活性化抗原としても知られており、ある種の抗 FcεRII/CD23 抗体や B 細胞由来の可溶性 FcεRII/CD23 が B 細胞に増殖を誘導することから、可溶性 FcεRII が B 細胞増殖因子である可能性が報告されている。

そこで可溶性 FcεRII の B 細胞増殖に対する機能の解析、および組換え可溶性 FcεRII を用いたアレルギーのエフェクター細胞 (好塩基球、マクロファージなど) への IgE 結合阻害と細胞機能の抑制を目的として本研究を行った。

### 〔方法ならびに成績〕

- (1) 可溶性 FcεRII cDNA の構築：以下の 4 種の cDNA、すなわち ① 全 FcεRII cDNA (pFcεR-1) ② 可溶性 FcεRII をコードする cDNA (pNFcεR-1) ③ 全 FcεRII cDNA より細胞内ドメイン

部位を除去したcDNA(p NFcεR-2) ④可溶性FcεRIIをコードするcDNAにIL6のシグナル配列を結合させたcDNA(psFc R-1), をpGEM4プラスミドに組み込んだ。

(2) 各cDNA産物のIgE結合活性：上記のcDNAを鋳型としてRNAを合成しXenopus oocyteにmicroinjectionした。2日間培養後、上清を抗FcεRII抗体で免疫沈降し、SDS-PAGE解析を行ったところ④psFcεR-1からのRNAの産物のみが分子量23kdから27kdの分子として検出された。更に2種の抗FcεRII抗体を用いたELISAで、④psFcεR-1からのRNAを打ち込んだoocyteの培養上清のFcεRII活性を測定したところFcεRII陽性B細胞株RPMI 8866の培養上清と比べ約30倍の活性を有していた。またIgE結合能においては8866細胞由来可溶性FcεRIIと同等であった。

(3) B細胞増殖に対する可溶性FcεRIIの活性：④psFcεR-1をpSV2-dhfrあるいはADHI gene promotorをもつ酵母ベクターに組換えCHO細胞あるいは酵母に導入した。結果、1500単位(6μg)/ml/10<sup>6</sup>cellsの濃度で効率よく可溶性FcεRIIを産生した。更に培養上清より抗FcεRII抗体カラムを用いて精製しELISAにてIgE結合活性を測定したところB細胞由来のnativeな分子と同等の活性を示した。

次に、この可溶性FcεRIIのB細胞増殖能を調べるため扁桃B細胞培養中に抗IgM抗体セファロース刺激下で可溶性FcεRII(24μg/ml)を添加しトリチウム・チミジンの取り込みを測定した。結果、CHO細胞由来および酵母由来可溶性FcεRIIいずれの場合においてもB細胞増殖に対して全く影響を与えなかった。

(4) 可溶性FcεRIIによるFcεRII陽性細胞へのIgE結合阻害と細胞活性化の抑制：単球へのIgE結合阻害を検討するため単球株U937を用い可溶性FcεRIIのIgE-羊赤血球ロゼット形成の阻害率を測定した。結果、ロゼット形成は可溶性FcεRII, 30μg/ml存在下で約70%の阻害を受けた。

次に正常末梢血中の単球をIL4, 100単位/mlで2日間培養し、FcεRIIを発現誘導後、IgE-羊赤血球刺激による活性化酸素の産生量をNBTテストで検出した。結果その産生は可溶性FcεRII, 100μg/mlにより約80%の抑制を受けた。

(5) 可溶性FcεRIIによるFcεRIへのIgE結合阻害とヒスタミン遊離抑制：慢性骨髄性白血病患者末梢血より好塩基球を単離しIgEロゼット法にて可溶性FcεRIIによる、IgEのFcεRIへの結合阻害を検討したところ、250μg/mlの存在下で約70%の結合阻害を認めた。また放射性ヨード標識IgEを用いた阻害実験では、IgE, 2μg/mlの結合は可溶性FcεRII, 600μg/mlの存在下で75%の阻害を受けた。

杉花粉抗原およびダニ抗原刺激による好塩基球からのヒスタミン遊離は可溶性FcεRII, 500μg/mlにおいて70%の抑制を受けた。

#### 〔総括〕

① 遺伝子工学的手法を用いてIL6リーダー配列と可溶性FcεRII配列との融合遺伝子を作製することにより、本来膜型蛋白であるFcεRIIを分泌蛋白として大量に効率よく動物細胞培養系から産生させることに成功した。

② 可溶性FcεRII/CD23がB細胞において増殖因子活性を示す可能性が報告されているが、組換え可溶性FcεRIIを用いた実験からこの分子自身がB細胞増殖因子活性をもつ可能性は否定された。

③ 可溶性FcεRIIはエフェクター細胞であるFcεRIおよびFcεRII陽性細胞へのIgE結合を阻害し細胞機能を抑制した。これはアレルギーのエフェクター相の反応を抑制し得る可能性を示し、この分子を用いたアレルギーの臨床治療への道を開くものである。

## 論文の審査結果の要旨

リンパ球の低親和性IgE受容体(FcεRI/CD23)は、B細胞特有の分化抗原であり、その一部の分解産物が可溶性FcεRIIとして細胞外へ遊離する。可溶性FcεRIIは、アレルギーにおいてはエフェクター細胞の機能を抑制している可能性が示唆されており、またB細胞増殖因子活性をもつ可能性も報告されている。この可溶性FcεRIIの機能を解明することは、一連のアレルギー反応やB細胞増殖機構を理解する上で重要である。

本論文は、遺伝子組換えによる可溶性FcεRIIの作製を試み、この分子の機能解析を行ったものである。その結果、この分子にはB細胞増殖因子活性が無いことが示され、さらに可溶性FcεRIIがエフェクター細胞からのヒスタミンや活性化酸素の遊離を抑制することが示された。これは、この分子を用いたアレルギーのリセプター治療応用の可能性を示唆するものである。

本論文は、学位論文として十分価値あるものと認められる。